



EFEITOS DO OZÔNIO EM PELES DE RÃ TOURO USADAS COMO MEMBRANAS CURATIVAS: ESTUDO PRELIMINAR

D N de Moraes¹, A B Fernandes², D I Kozusny-Andreani¹, M M Amaral¹, R S Navarro¹

¹ Instituto Científico e Tecnológico - Universidade Brasil, São Paulo, Brasil.

² Instituto de Engenharia Biomédica - Universidade Anhembi Morumbi, São José dos Campos, Brasil.

dionekenia@hotmail.com

Background, Motivation and Objective. O uso de curativos que atuem como barreira física é de extrema importância no tratamento de pacientes que sofrem extensas lesões de pele. As opções os curativos disponíveis no mercado podem ser de origem animal e/ou sintéticos, cada um apresentando vantagens e desvantagens. Anualmente, cerca de um milhão de pessoas sofrem queimaduras no Brasil, de acordo com informações do Ministério da Saúde, e pelo menos um terço evoluem para lesões de pele e necessitam de membranas curativas. Assim, a busca por alternativas de membranas curativas que sejam capazes de agir como barreira física, permitindo uma troca gasosa adequada, onde deve ser seguro ao paciente; ser clinicamente eficaz; ser de fácil aplicação, de fácil manipulação e que auxiliem no tratamento de feridas se mostra relevante. O Brasil é o campeão mundial na produção de rã-touro para consumo de sua carne, sendo a pele deste animal geralmente descartada pelos produtores devido a seu baixo valor comercial. O potencial da pele da rã-touro para utilização como membrana curativa foi anteriormente demonstrada (doi:10.1590/S0102-86502002000300002), este trabalho utilizou antibiótico para desinfecção das peles. O ozônio (O₃) é conhecido pelo seu alto efeito antimicrobiano, sem desenvolvimento de cepa resistente. Este trabalho teve o objetivo de avaliar o efeito da água ozonizada (O₃) na desinfecção da pele de rã-touro (*Rana catesbeiana*) para uso como membranas curativas terapêuticas em feridas cutâneas.

Methods. Foram analisadas 15 amostras padronizadas com 1 cm² de pele rã-touro divididas em sete grupos de tratamento. No grupo 1 (G1), as peles foram mantidas apenas em solução salina; no grupo 2 (G2) em antibióticos (AB): PENICILINA 10.000 UI (63 UI/mL); ESTREPTOMICINA (100 mg/mL); GENTAMICINA (500 mg/mL), no grupo 3, 4, 5, 6 e 7 foram mantidas em água ozonizada (O₃) por 5 (G3), 10 (G4), 12 (G5), 15 (G6) e 20 min (G7) respectivamente. Para a realização dos testes microbianos foram realizados em meios de cultura, TSA, Baird-Parker (Oxoid®), Eosina Azul de Metileno (EMB, Oxoid®) e Sabouraud-dextrose (Oxoid®). As placas semeadas e incubadas foram mantidas em estufa por 24 horas (1ª leitura) e 48 horas (2ª leitura). Após esse período, foi realizada a contagem por unidade formadora de colônia (UFC/mL). As culturas foram avaliadas pela morfologia das colônias e pela coloração de Gram. As bactérias Gram-negativas foram identificadas pelo sistema API20E (Analytical Profile Index, BioMérieux®), enquanto que as bactérias Gram-positivas foram submetidas aos testes: coagulase, catalase, NaCl 5%, oxidase, novobiocina e DNase. A análise do tecido foi realizada a partir da avaliação das características histológicas, onde avaliaram de forma qualitativa as possíveis alterações histológicas entre os grupos das amostras antes e após cada tratamento. Os valores da avaliação microbiológica em log de redução foram submetidos à análise de variância ANOVA, adotando o teste de Tukey como teste complementar visando à comparação entre os grupos avaliados utilizando um nível de significância de 95 % (p < 0,05).

Results. A figura 1A apresenta os valores de redução microbiológica para cada um dos grupos estudados. Todos os grupos (G2 ao G7) promoveram redução microbiana quando comparados com o grupo controle (G1) ($p < 0,001$). Os grupos G3 à G7 promoveram uma efetiva redução microbiana ($p < 0,001$) quando comparadas entre si, tendo sido observada uma redução gradativa (de G3 ao G7) dependente da dose de ozônio empregada. O grupo G2 e G7 promoveram os maiores valores de redução microbiana ($p < 0,001$) entre os grupos estudados, sem diferença significativa entre esses dois grupos ($p > 0,001$). A figura 1B apresenta uma imagem histológica normal e uma após tratamento com água ozonizada por 20 min (G7). Observou-se que as amostras das peles de rã-touro (*Rana catesbeiana*) analisadas apresentaram um padrão histológico típico dos anfíbios, com epiderme apresentando um epitélio estratificado pavimentoso fino, pouco queratinizado (lâmina basal), derme com um estrato esponjoso (tecido conjuntivo frouxo) com glândulas alveolares bem desenvolvidas, vasos sanguíneos e cromatóforos do tipo melanóforos e um estrato compacto (tecido conjuntivo denso). Desta forma, o ozônio não promoveu alterações histológicas nas peles de rã.

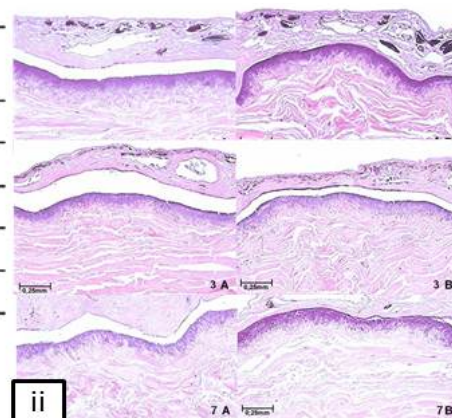
Discussion and Conclusions. O uso do ozônio mostrou-se um método eficaz no processamento de peles de rã-touro (*Rana catesbeiana*), pois promoveu sua desinfecção sem causar nenhum dano estrutural. Assim, o uso da água ozonizada na desinfecção de pele de rã-touro é uma técnica promissora com possibilidades de ser empregada futuramente no tratamento de feridas cutâneas. O uso de antibióticos é considerado o “padrão ouro”, por ser o método mais utilizado na desinfecção de membranas biológicas, por apresentar resultados efetivos e seguros, porém há alto custo, maior tempo de aplicação, possibilidade da presença de resíduos nas peles de rã-touro que posteriormente atinjam o substrato cutâneo, e pode levar a seletividade e resistência microbiana, assim o ozônio se mostra mais eficiente por não causar resistência microbiana.

Figures 1: (i) Resultados em log de redução a partir das amostras isoladas da pele de rã-touro nos diferentes grupos experimentais. (ii) Fotomicrografias ilustrativas das peles da rã-touro (*Ranacatesbeiana*) antes (A) e após (B) os tratamentos propostos (HE, 100X): 1- grupo 1 solução salina (controle negativo); 2- grupo 2 antibióticos (controle positivo) antes (A) e após (B) e 7- grupo 7- Ozônio 20 min.

Tratamentos	Ozônio 5 min	Ozônio 10 min	Ozônio 12 min	Ozônio 15 min	Ozônio 20 min
Antibióticos	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	ns
Ozônio 5 min	-	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$
Ozônio 10 min	$p < 0,001$	-	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$
Ozônio 12 min	$p < 0,001$	$p < 0,001$	-	$p < 0,001$	$p < 0,001$
Ozônio 15 min	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,05$	-	$p < 0,001$

*ns: não significante ($p > 0,001$)

i



ii

Keywords: Ozônio, Rãs-touro, *Rana catesbeiana*, feridas cutâneas, cicatrização de feridas.